



Caracterização de Genótipos de Milho para Uso e Eficiência de Nitrogênio

Frederico Ozanan Machado Durães¹
Ivanildo Evódio Marriel¹
Elto Eugenio Gomes Gama¹
Antônio Carlos de Oliveira¹
Fernando Rodrigo Oliveira Cantão²

A seleção de cultivares mais eficientes no uso de nitrogênio tem sido buscada tanto na agricultura capitalizada como na agricultura de baixos insumos. Isto porque os desperdícios e a escassez desse elemento mineral, que é um dos mais exigidos pelas plantas (MARSCHNER, 1995), podem gerar problemas econômicos, ambientais, de saúde pública e de segurança alimentar.

Várias estratégias podem ser adotadas no intuito de aumentar a eficiência no uso de N. Uma das mais simples é a redução das doses de adubos, para níveis que sejam produtivos e seguros (FERNÁNDEZ et al., 1998). Outra estratégia é o melhoramento genético de materiais com maior eficiência no uso de N. A seleção desses materiais é feita principalmente com base na produção, mas características secundárias, de alta herdabilidade e correlacionadas com a produção, podem acelerar o processo (BÄNZIGER et al., 1995, 1997, 1999).

As características secundárias mais utilizadas e estudadas têm sido teor de clorofila da folha da espiga, altura de planta e inserção da primeira espiga, senescência foliar (LAFITTE & EDMEADES, 1994), prolificidade e IFMF (intervalo entre florescimento masculino e feminino) (DURÃES et al., 1997) e fluorescência da clorofila (DURÃES et al., 2002). Também é observado que o comportamento diferencial de genótipos, durante a mudança de níveis de nitrogênio disponível às plantas, indica diferentes mecanismos relacionados à eficiência no uso de nitrogênio (EUN*), pois materiais que interagem diferencialmente com N expressam o sinal de que diferentes genes estão sendo usados por cada um deles nos ambientes com níveis diferentes de N.

O nitrogênio é um dos nutrientes mais exigidos pela cultura do milho e sua utilização vem aumentando gradativamente, com o aumento do potencial genético

¹Pesquisador da Embrapa Milho e Sorgo. Caixa Postal 151. CEP 35701-970 Sete Lagoas, MG. E-mail: fduraes@cnpmis.embrapa.br; imarriel@cnpmis.embrapa.br; gamaelto@cnpmis.embrapa.br; oliveira@cnpmis.embrapa.br.

² Eng. Agr., Bolsista/Mestrando da Universidade Federal de Lavras -UFLA

das cultivares (BÄNZIGER et al., 1997). Carl nove e Russel (1987), comparando híbridos de milho de diferentes épocas de comercialização, constataram que os híbridos mais antigos apresentaram, em comparação com os híbridos mais recentes, baixa resposta às doses crescentes de N. Materiais N responsivos e/ou eficientes constituem uma forte estratégia para o melhoramento de milho. Também é possível corrigir a deficiência de N na cultura do milho no mesmo ciclo. Plantas de milho com deficiência de N apresentam folhas mais velhas amareladas e com um "V" esbranquiçado ao longo da nervura principal e espigas deformadas na ponta. Coelho et al. (1992) concluíram que houve pronunciada resposta do milho à aplicação de N, com um incremento de 80% no rendimento de grãos da dose zero (0,0) para 120 kg/hectare de N. A escolha da cultivar mais adequada a cada situação é o fator de acréscimo na produtividade, que pode ser obtido sem custo adicional no sistema de produção.

Os objetivos deste trabalho foram: avaliar genótipos do Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de Milho da Embrapa Milho e Sorgo, quanto à EUN, utilizando como ferramentas um padrão visual de verde foliar, teor de clorofila (analítico, por três metodologias, e indiretamente, através do medidor portátil de clorofila), N-total e produção de grãos; correlacionar esses parâmetros visando criar metodologia de baixo custo, rápida e com uma boa precisão para se avaliar preliminarmente genótipos de milho quanto à sua performance para nitrogênio.

Para a avaliação do uso e eficiência de nitrogênio em milho, foram realizados vários estudos, incluindo a caracterização preliminar de linhagens, estudos sobre a influência da adubação nitrogenada na performance de plantas de milho, bem como a comparação de métodos diretos e indiretos de avaliação de plantas e sobre a incidência e severidade de doenças foliares. Um experimento foi conduzido em campo, na Embrapa

Milho e Sorgo, em um LVE ("sítio" ambiental para baixo N) e foram avaliadas 145 linhagens para uso e eficiência de nitrogênio, sendo 144 genótipos do BAG-Milho e um genótipo controle (população CMS-28), em linhas intercalares de blocos de 12 genótipos, na estação de crescimento do ano de 2003/2004. As sementes foram plantadas manualmente. O estande inicial foi constituído por linhas de 5 m de comprimento, com 25 plantas por parcela, com espaçamento entre plantas de 0,20m e entre linhas de 0,50m. Não foi feita adubação de N em plantio ou cobertura. O experimento foi instalado em látice simples 12x12, com duas repetições.

Neste trabalho, serão apresentadas as avaliações feitas durante o estágio fenológico de pleno florescimento (masculino e feminino). As análises do teor foliar de clorofila constaram de dois métodos indiretos: escore visual e clorofilômetro (Modelo SPAD 502, MINOLTA); e, de três métodos diretos analíticos: Arnon (1949), Lichtenthaler (1987) e Porra (1989). As análises indiretas constaram de escores visuais no dossel das plantas na parcela, que variavam de 1 a 5, de acordo com um padrão visual de cor (verde a amarelo) na superfície foliar (Figura 1), sendo assim definido: escore visual 1 (de 100% a 80% de teor de clorofila, correspondendo a plantas com uma coloração verde-escura. A nota 1 (100%) representa uma planta bem nutrida sem restrição de N; escore visual 2 (teor de 80% a 60% de clorofila, expresso na planta como uma tonalidade verde; escore visual 3 (de 60% a 40% de teor de clorofila, manifestado na planta como um verde-amarelado; escore visual 4 (de 40% a 20% de teor de clorofila e expresso como um tom foliar amarelado-verde; o escore visual 5 (de 20% a 0% de teor de clorofila, em plantas de cor completamente amarelada e avançado estágio de morte de tecidos, significando senescência foliar).

Através do clorofilômetro, mediram-se o teor de clorofila, utilizando-se dois padrões foliares: folha

* EUN - eficiência de uso de N: a razão entre mg matéria seca de planta/mg de N na planta e a razão entre mg de CO₂ fixado/mg de N na planta (LARCHER, 2000; MEDICI, 2003). Em milho, Moll et al. (1982) definiram a eficiência no uso de N como massa de grãos dividida pela massa de N aplicada no solo (Gw/Ns). A eficiência no uso de N (EUN) seria o produto da eficiência na absorção pela eficiência na utilização. Materiais com maior EUN apresentam menor diferença de resposta produtiva em alto e baixo N (ROSIELLE & HAMBLIN, 1981).

Padrão fenotípico para N em linhagens de milho, no florescimento

(Escala de Notas: 1 a 5, conforme Durães et al. 2004)



Figura 1. Escala para padrão visual de cor no dossel de plantas de milho.

bandeira e folha adjacente à espiga (folha superior e oposta à espiga). Foram feitas 30 leituras por parcela, utilizando o terço médio da folha, a 2 cm da margem da folha, como descrito em Argenta et al. (2001). Com base nos valores médios do clorofilômetro, por genótipo, construiu-se o índice de suficiência de N (ISN, índice de suficiência de N = $100 \times \text{médica de leituras SPAD por genótipo} / \text{maior média de leituras SPAD referência}$), que traduz a suficiência (planta bem nutrida em N) ou a necessidade de N (planta com estresse de N). As determinações diretas analíticas foram realizadas utilizando-se o mesmo material foliar em que foram feitas as leituras com o clorofilômetro.

O teor de nitrogênio total foi determinado em amostras retiradas das mesmas folhas em que foram obtidos os teores de clorofila. As amostras coletadas foram secadas em estufa, a 72°C, por quatro dias. Após a secagem, as amostras foram moídas e enviadas para o laboratório, para determinação do N total, através do sistema F.I.A. - *Flow Injection Analysis*, descrito por Zagatto et al. (1981) e Silva (1999).

A caracterização de linhagens de milho visando uso e eficiência de N e a identificação de métodos diretos e indiretos para avaliação da performance de N em

plantas de milho estão apresentadas nas Tabela 1 e Figura 2. A Tabela 1 mostra as variáveis descritoras de 145 (inclui linhagem controle) genótipos de milho cultivados sob baixo nível de nitrogênio.

As correlações significativas ($\alpha = 0,05$) de variáveis avaliadas por métodos aferidores do teor de N em plantas podem ser observadas na Tabela 2. As correlações entre a diferenciação de coloração do verde foliar (expressa pela escala visual de notas, EVN) e o teor de clorofila foliar (métodos diretos e indiretos) foram significativas, ao nível de 5% de probabilidade. Também foram significativas as correlações entre o teor de clorofila na folha adjacente à espiga (SPADa) e na folha bandeira (SPADb) e a concentração de nitrogênio, bem como as correlações entre a escala visual de notas e o teor de clorofila na folha adjacente à espiga e produção de grãos.

As correlações entre SPADa e SPADb indicam similares respostas entre os dois órgãos amostrados; entretanto, recomenda-se que, em se tratando de linhagens, sejam amostradas as folhas adjacentes à espiga, para análises fisiológicas, porque a folha bandeira normalmente é de limbo foliar pequeno e, às vezes, irregular por formação ou pragas. Isto é

Tabela 1. Variáveis descritoras de linhagens de milho cultivadas sob baixo nível de nitrogênio.

Valores	FF	ALP	ALE	PQ	IST	NESP	PRL	PG ₁₃	EVN	SPAD	ISN
Mínimo	62	103	33	0,0	0,5	7	0,3	94	1	22	49
Máximo	76	185	108	6,5	0,9	34	1,6	1462	4	45	100
Média	70	139	65	0,8	0,8	21	0,9	579	2,5	35	78
Desvio padrão	3	18	12	1,1	0,1	5	0,2	267	0,6	5	11

Legenda: FF, florescimento feminino, dias; ALP, altura de planta, cm; ALE, altura de espiga, cm; PQ, planta quebrada; IST, índice de estande = no. de plantas observado/total ideal na parcela; NESP, quantidade de espigas na parcela; PRL, prolificidade = número médio de espigas por planta; PG₁₃, peso de grãos (g/planta, a 13% umidade); EVN, escala visual de notas (1 a 5); SPAD, conteúdo de nitrogênio (leitura *SPAD meter*); ISN, índice de suficiência de nitrogênio (100*média de leituras *SPAD* por genótipo/maior média de leituras *SPAD* referência)

Tabela 2. Correlação entre variáveis descritoras de genótipos de milho cultivados sob baixo nível de nitrogênio.

Variáveis	V1, EVN	Legenda:
V1, EVN	1,00	
V2, SPADa	-0,86	EVN, escala visual de notas (1 a 5); SPADa, teor de clorofila (SPAD, na folha adjacente a espiga);
V3, SPADb	-0,86	SPADb, teor de clorofila (SPAD, na folha
V4, [N]	-0,79	bandeira); [N], concentração de N na folha
V5, <i>Clo</i> Arnon	-0,52	adjacente a espiga; <i>Clo</i> Arnon, teor de clorofila
V6, <i>Clo</i> Lichtenthaler	-0,54	pelo método de Arnon (1949); <i>Clo</i> Lichtenthaler,
V7, <i>Clo</i> Porra	-0,55	teor de clorofila pelo método de Lichtenthaler
V8, PG _{13%}	-0,55	(1987); <i>Clo</i> Porra, teor de clorofila pelo método
		de Porra (1989); PG _{13%} , produção de grãos a 13%
		de umidade

** significância a 5% de probabilidade

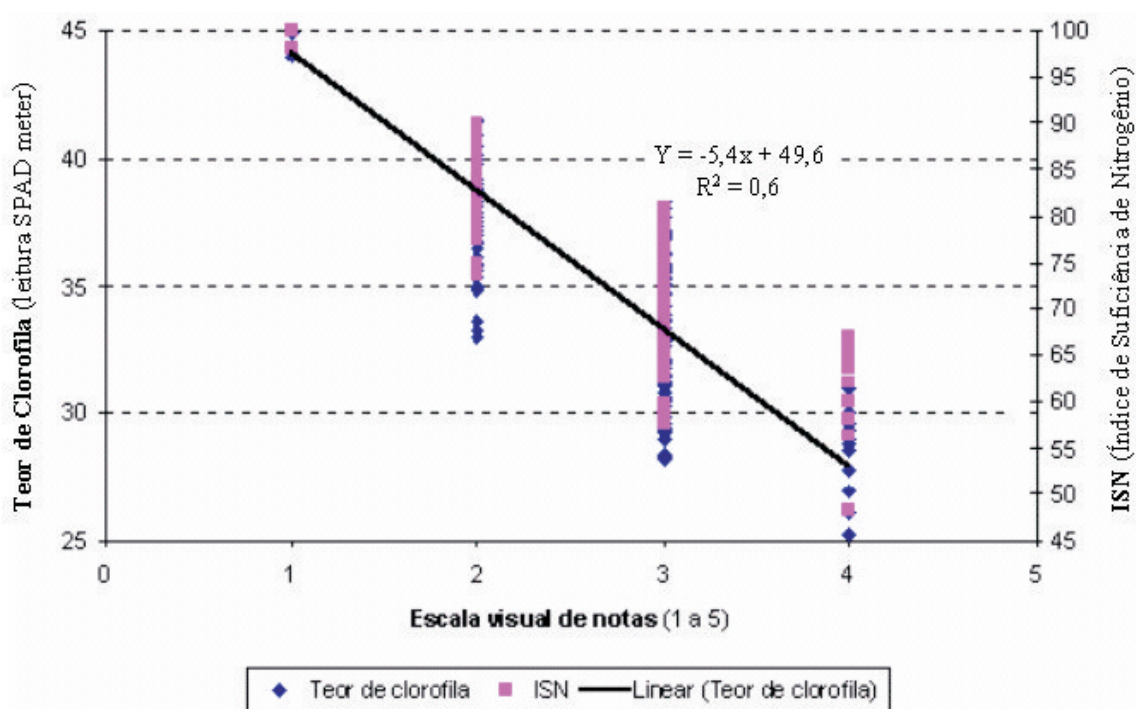


Figura 2. Relação entre o teor de clorofila (leitura *SPADmeter*), índice de suficiência de nitrogênio (ISN) e escala visual de notas (1 a 5). (Cada ponto representa a média de 30 leituras por genótipo de milho).

particularmente indicado para análises visuais ou destrutivas. A Figura 2 demonstra que, por se tratar de linhagens, e de expressarem respostas variadas a nitrogênio, com indicativos de mecanismos diferenciados de eficiência, pode-se ampliar esses estudos, visando melhor reconhecer esta variabilidade.

O material genético utilizado apresenta variabilidade para as características uso e eficiência de N. Performances (vegetativa e reprodutiva) distintas caracterizam diferentes mecanismos de plantas de milho para uso e eficiência de N. Métodos rápidos indiretos estão correlacionados com métodos analíticos diretos de aferição de N. Sob manejo orientado, método indireto constitui potente ferramenta indicadora do estado nutricional de N. Estado nutricional de N está correlacionado com produção de fitomassa total e rendimento de grãos em milho.

Referências Bibliográficas

- ARGENTA, G.; SILVA, P. R. F.; BORTOLONI, C. G.; FORSTHORFER, E. L.; STRIEDER, M. L. Relação da leitura do Clorofilômetro com os teores de clorofila extraível e de nitrogênio na folha de milho. **Brazilian Journal of Plant Physiology**, Piracicaba, v.13, n.2, 2001.
- ARNON, D. I. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidases in *Beta vulgaris*. **Plant Physiology**, Bethesda, v. 24, p. 1-15, 1949.
- BÄNZIGER, M.; BETRÁN, F. J.; LAFITTE, H. R. Efficiency of high-nitrogen selection environments for improving maize for low-nitrogen target environments. **Crop Science**, Madison, v. 3, p.1103-1109, 1997.
- BÄNZIGER, M.; EDMEADES, G. O.; LAFITTE, H. R. Selection for drought tolerance increases maize yields across a range of nitrogen levels. **Crop Science**, Madison, v. 39, p.1035-1040, 1999.
- BÄNZIGER, M.; LAFITTE, H. R.; EDMEADES, G. Intergenotypic competition during evaluation of maize progenies under limited and adequate N supply. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 44, n.1, p. 26-31, 1995.
- CARLONE, M. R.; RUSSEL, W. A. Response to plant densities and nitrogen levels for maize cultivars from different eras for breeding. **Crop Science**, Madison, v. 27, p. 465-70, 1987.
- COELHO, A. M.; FRANÇA, G. E.; BAHIA FILHO, A. F. C.; GUEDES, G. A. A. Doses e métodos de aplicação de fertilizantes nitrogenados na cultura do milho sob irrigação. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**. Campinas, v.16, p. 61-67. 1992.
- DURÃES, F. O. M.; PAIVA, E.; MAGALHÃES, P. C.; SANTOS, M. X.; PEREIRA, J. J.; LABORY, C. R. G. Critérios morfo-fisiológicos utilizados para seleção de genótipos de milho visando tolerância à seca. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FISILOGIA VEGETAL, 6., 1997, Belém. **Resumos...** Belém: SBFV, 1997. p. 291.
- DURÃES, F. O. M.; GAMA, E. E.; MAGALHÃES, P. C.; MARRIEL, I. E.; CASELA, C. R.; OLIVEIRA, A. C.; LUCHIARI, J. R.; SHANAHAN, J. F. The usefulness of chlorophyll fluorescence in screening for water, N use efficiency, Al toxicity, and disease in maize. In: EASTERN AND SOUTHERN AFRICA MAIZE CONFERENCE, 7.; SYMPOSIUM ON LOW NITROGEN AND DROUGHT TOLERANCE IN MAIZE. 2002. Nairobi. [abstracts and proceedings] Mexico: CIMMYT, 2002.
- FERNÁNDEZ, J. E.; MURILLO, J. M.; MORENO, F.; CABRERA, F. Reducing fertilization for maize in southwest Spain. **Communications in Soil Science and Plant Analysis**, New York, v. 29 n. 19- 20, p. 2829-2840, 1998.
- LAFITTE, H.R.; EDMEADES, G.O. Improvement for tolerance to low soil nitrogen in tropical maize I. Selection criteria. **Field Crops Research**, Amsterdam, v. 39, n. 1, p. 1-14, 1994.
- LARCHER, W. **Ecofisiologia vegetal**. São Carlos: Rima Artes e Textos, 2000. 531 p.
- LICHTENTHALER, H. K. **Chlorophyll and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes**. San Diego: Academic Press, 1987. (Methods in Enzymology, 148

MARSCHNER, H. **Mineral nutrition of higher plants**. London: Academic Press, 1995. 889 p.

MEDICI, L. O. **Cruzamentos dialélicos entre linhas de milho contrastantes no uso de nitrogênio**. 2003. Tese (Doutorado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

MOLL, R. H.; KRAMPRATH, E. T.; JACKSON, W. A. Analysis and interpretation of factors which contribute to efficiency of nitrogen utilization. **Agronomy Journal**, Madison, v. 74, n. 3, p. 562-564, 1982.

PORRA, R. J.; THOMPSON, W. A.; KRIEDMANN, P. E. Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. **Biochimica et biophysica Acta**, Amsterdam, v. 975, p. 384-394, 1989.

ROSIELLE, A. A. ; HAMBLIN, J. Theoretical aspects of selection for yield in stress and non-stress environments. **Crop Science**, Madison, v. 21, n. 1, p. 943-946, 1981.

SILVA, F. C. da. **Manual de análises químicas de solos, plantas e fertilizantes**. Brasília, DF: Embrapa Comunicação para Transferência de Tecnologia, 1999. 370 p.

ZAGATTO, E. A. G.; JACINTHO, A. O.; REIS, B. F.; KRUG, F. J.; BERGAMIN Fº, H.; PESSENDA, L. C. R.; MORTATTI, J.; GINÉ, M. F. **Manual de análises de plantas e águas empregando sistemas de injeção em fluxo**. Piracicaba: USP/CENA, 1981. 40 p.

Comunicado Técnico, 128

Ministério da Agricultura,
Pecuária e Abastecimento



Exemplares desta edição podem ser adquiridos na:
Embrapa Milho e Sorgo
Endereço: Rod. MG 424 Km 45 Caixa Postal 151
CEP 35701-970 Sete Lagoas, MG
Fone: (31) 3779 1000
Fax: (31) 3779 1088
E-mail: sac@cnpmis.embrapa.br

1ª edição
1ª impressão (2005): 200 exemplares

Comitê de publicações

Presidente: Antônio Carlos de Oliveira
Secretário-Executivo: Paulo César Magalhães
Membros: Camilo de Lélis Teixeira de Andrade,
Cláudia Teixeira Guimarães, Carlos Roberto Casela,
José Carlos Cruz e Márcio Antônio Rezende Monteiro

Expediente

Supervisor editorial: Clenio Araújo
Revisão de texto: Dilermando Lúcio de Oliveira
Editoração eletrônica: Dilermando Lúcio de Oliveira